



TITLE:

計画13-3 霊長類におえけるシトクロムP-450のポリモルフィズムに関する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

大森, 栄

CITATION:

大森, 栄. 計画13-3 霊長類におえけるシトクロムP-450のポリモルフィズムに関する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1991, 21: 76-77

ISSUE DATE:

1991-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164231>

RIGHT:

DHAを含めたポリエン酸の蓄積の度合や体内分布が加齢によって変化するのではないかと考え、以下の実験を行なった。

カニクイザルの新生仔、および成獣の肝臓、大脳皮質の脂質を改良 Folch 法で抽出した後、脂質クラスおよびリン脂質サブクラスに薄層クロマトグラフィーで分別し、ガスクロマトグラフィーで脂肪酸分析を行なった。

新生仔の肝臓では、成獣に比べ、主要リン脂質のひとつであるホスファチジルコリン (PC) の含有率が低かった。しかし、PC およびホスファチジルエタノールアミン (PE) のいずれにおいてもポリエン酸含有率は新生仔で高く、特にアラキドン酸 (n-6系) でその傾向が強かった。

大脳皮質では、PC/PE の値に年令による差異を認めなかったが、リン脂質サブクラス (PC, PE, PS) の脂肪酸組成には差を認めた。リン脂質サブクラスによって脂肪酸分布のパターンが異なるが、いずれのサブクラスでも、新生仔でアラキドン酸含有率が高く、オレイン酸 (n-9系) 含有率が著しく低いことが共通していた。

以上の結果から、生理活性を持つエイコサノイドの前駆体としてのアラキドン酸の重要性が、新生直後には特に高いこと、DHA の蓄積がそれに次いで起こることが示唆された。新生直後にアラキドン酸含有率が高いのは、胎児期に母体から供給されたものを蓄積した結果である可能性と、ポリエン酸合成酵素、リン脂質合成酵素の基質選択性がこの時期には n-6系脂肪酸に傾むく可能性について考えられた。

計画13-2:

サル各組織におけるアブシジン酸の局在とその生理的意義に関する研究

手塚修文 (名古屋大)

動物の組織 (細胞) 中に植物ホルモンが、また植物組織 (細胞) 中には動物細胞における生理活性物質が、存在していることが報告されつつある。その内でも植物ホルモンの一種であるアブシジン酸 (ABA) やインドール酢酸 (IAA) は脳や血液中に特に多く局在していることも認識されつつある。しかし動物細胞内におけるこれらの植物ホルモンの生理作用および合成系の重要性についての研究報告はほとんど無い。この研究ではニホン

ザルの組織・細胞内における植物ホルモンの一種である ABA の局在様式とその生理的意義を解明するのが目的である。今回は ABA 抽出精製について、まず植物と動物を実験材料とした場合の ABA の抽出・精製効率を比較検討したのち、実験材料として霊長類の血液を用いて ABA の抽出・精製法をさらに効率よくすることを試みたのでこれについて報告する。

前回 (1989年度) に一応確立した抽出・精製法をさらにより良くするために工夫・改善を試みた。ABA および IAA (これは植物では ABA の反対の作用) の定性定量測定のためにガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS) を用いて同定・定量を行う必要がある。そこでサル血液より分離した ABA の検出のためにはガスクロマトグラフによる解析法がすぐれているので、ジアゾメタンを用いた ABA のメチルエステル化が必要である。このステップ後に未反応のジアゾメタンの除去が問題となったのでメチルエステル化した ABA だけを特異的に精製するときの活性化処理したシリカゲルカラムを通して有機溶媒の組成をいろいろ組合せて行った結果、IAA はベンゼンで、ABA はエーテルでそれぞれ分離溶出されることが明らかとなり且つこのステップの収率は90% (これ以上の収率はシリカゲルの性質上困難) であった。ひきつづき血液・脳の ABA の存在意義とその作用機構などについて検討中である。

計画13-3:

霊長類におけるシトクロム P-450 のポリモルフィズムに関する研究

大森 栄 (千葉大)

ニホンザル肝マイクロソーム (Ms) 中のシトクロム P-450 (P-450) のポリモルフィズムの有無に関し、今年度用いた3検体を含め15検体の結果を報告する。

肝 Ms 中の P-450 比含量には、個体差、性差は認められなかった。

P-450 依存の薬物代謝活性の個体差、性差を、テストステロン (Ts)、イミプラミン、デシプラミンを用いて検討した。Ts 水酸化活性は、ラット、ヒト同様、ニホンザルでも 6β 水酸化活性が最も高かった。本活性は、約2.1倍の個体差が認められたにすぎず、かつ性差も認められなかった。

三環系抗うつ薬であるイミプラミン、デシプラミンは、2位水酸化ならびにN-脱メチル化反応が主代謝経路であった。ニホンザルで、デシプラミンN-脱メチル化活性は僅かな性差が見られた。

カニクイザル肝より精製したP-450I-a, P-450I-cのニホンザルでの発現について、各P-450の定量を行った。P-450I-aでは28~149 pmol/mg, P-450I-cでは154~437 pmol/mgと各々約5.3ならびに2.8倍の個体差が認められた。ヒト肝P-450であるP-450_{MP}, P-450_{NF}についても同様に定量した結果、各々1.9倍、2.1倍の個体差が認められた。これらの個体間での各P-450発現の差異は、性ならびに年令との間に相関性は認められなかった。

今年度明らかとなったP-450I-a発現の個体間での差ならびにP-450I-cを含めて、ニホンザル間でも、ヒトと比較可能な程度の個体差が存在することが明らかとなった。しかし、この差異が遺伝的要因によるものか否かは現在の所不明である。

B. 自由研究

自由1:

温度眼振反応の霊長類間の種差について

新井寧子・久田由子・飯田直美
(東京女子医大第二病院耳鼻咽喉科)
鈴木淳一(帝京大学耳鼻咽喉科)

ヒトの温度眼振第二相は、第一相が終了したのち坐位にしたときのみ必ず出現するが、赤毛ザルでは背臥位でも第二相が強い。従って、温度眼振第二相の頭位による変化について検討するのは、赤毛ザルが適しているであろう。しかし、温度眼振第二相とよく似た性質を持つ視運動性後眼振は赤毛ザルでは活発であるが、ヒトでは極めてよく、日本ザルでは必ずしも強くないという。温度眼振も霊長類の間での種差は大きいものとおもわれるため、本実験を計画した。

実験には、頭部を脳定位基準線より15°前傾した状態でモンキーチェアに固定することができる若い赤毛ザル2匹を使用した。頭位を容易にかえられるように小型軽量のモンキーチェアを作

成し、頭部位外はルーズにチェアに固定した。チェアの置き方をかえることによって、外側半規管面が重力に対し平行または直角になる坐位、背臥位、側臥位、腹臥位など所定の頭位をとらせた。外耳道に5 ccの冷水を注入することによって温度刺激を与えた。注水終了後速やかにチェアを動かして、背臥位または腹臥位にした。第一相に引き続き第二相の出現を確認した後、一つの軸の回りに90°または180°チェアを動かし、第二相と頭位の関係を、暗視野下のVTR記録により眼球運動を調べた。

背臥位で右耳を冷水刺激した温度眼振は、左・上・反時計回り方向の眼振急速相を持つ。この眼振は約2分後に停止すると間もなく、主として時計回りの回旋性眼振すなわち温度眼振第二相が出現する。この第二相はうす光で極めて容易に抑制された。十分強い第二相があるときに側臥位にすると垂直成分が、坐位にすると水平成分が増強し、回旋成分はほとんど消失した。さらに、元の背臥位または腹臥位に戻すと回旋性眼振が再び出現した。

これらの結果は、筆者らの観察したヒトにおける温度眼振第二相の水平・垂直成分の方向とは一致するものであった。本年は、赤毛ザルについての実験しか行うことが出来なかったため、さらに他の霊長類についても同様な観察を行うことを計画したい。

自由2:

霊長類動脈系の系統発生学的研究

池田 章・吉井 致・松本 真・奥坊康士・
津田邦義・太田茂男(川崎医大)

霊長類の動脈系の研究は、ヒトの動脈系を理解するために重要であり、各種霊長類に見られる原始的な形態がヒトの破格として観察されることもよく知られている。我々は、このような系統発生学的観点から、立体造形法を中心にして霊長類各分類群の動脈系の解析をおこなっている。今年度はフクロテナガザル1頭ほかの供与を受けて、これまでの観察に加え、とくに類人猿の上下肢の動脈系について知見をまとめた。

フクロテナガザルの上肢では、鎖骨下動脈、腋窩動脈、上腕動脈を経て、尺骨動脈・橈骨動脈が前腕を下行し、手で浅掌動脈弓・深掌動脈弓・近